

## ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ЗАРОДКАХ В'ЮНА ПРОТЯГОМ РАНЬОГО ЕМБРІОГЕНЕЗУ ЗА ВПЛИВУ АНТИБІОТИКУ ФТОРХІНОЛОНОВОГО РЯДУ БОРОЦИНУ

Тарновська А.В., Генега А.Б., Семочко О.М., Яремчук М.М.

Львівський національний університет імені Івана Франка

У статті досліджено інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів у зародках в'юна у контролі та за впливу бороцину у концентраціях (0,00001%; 0,001%; 0,005%) на різних стадіях розвитку впродовж періоду дроблення бластомерів. Показано, що за дії бороцину в досліджуваних концентраціях відбувається зростання інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів на початкових стадіях розвитку. Отримані результати дають підставу вважати, що зародки в'юна *Misgurnus fossilis L.* на стадіях синхронних поділів бластомерів є зручною та адекватною тест-системою для дослідження впливу фармакологічних та хімічних чинників на живі організми.

**Ключові слова:** зародки в'юна, перекисне окиснення ліпідів, брastoмери, фторхінолони.

**Постановка проблеми.** В сучасній біології залишається актуальним пошук тест-систем, які б дозволяли адекватно оцінити вплив фармакологічних засобів на організм людини і тварин. Застосування зародкових об'єктів є перспективним при дослідженні токсичності низки речовин, зокрема, антибіотиків класу фторхінолонів. Останні мають широкий спектр дії та використовуються для лікування захворювань центральної нервової системи, запальних процесів, захворювань ендокринної системи, а також як протиракові і противірусні препарати. Проте ступінь токсичності та механізм їх впливу на клітину остаточно не з'ясовані.

Як показники, що швидко реагують на зовнішні впливи, можна використати процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Відомо, що продукти ПОЛ впливають на активність мембраноз'язаних ферментів, беруть участь у процесах клітинного поділу та старінні організму. Ранній ембріогенез в цьому аспекті вивчений недостатньо. Зацікавленість до вивчення початкових стадій ембріогенезу зумовлена тим, що в цей час відбувається інтенсивний поділ клітин, а в його регуляції ПОЛ відіграє провідну роль [5; 6].

Фторхінолони – велика група антимікробних препаратів з класу хінолонів. Це високоефективні синтетичні хіміотерапевтичні засоби широкого спектру дії, з переважаючою антибактеріальною активністю, загальнорезобтивною дією і фармакокінетикою, що забезпечує високу ступінь біодоступності, добре проникнення в органи, тканини, біологічні рідини. Відомо, що фторхінолони утворюють хелатні комплекси з катіонами кальцію та магнію [3]. З огляду на це, застосування зародків в'юна, як тест-систем для дослідження впливу фторхінолонів на систему перекисного окиснення ліпідів набуває теоретичного та практичного інтересу.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Відомо, що інтенсивний поділ клітин на початкових етапах ембріогенезу потребує інтенсивного утворення нових клітинних мембран. Тому важливим є визначення інтенсивності перекисного окиснення як показника характеру перетворення ліпідів в ранньому ембріогенезі, який впливає на активність мембраноз'язаних ферментів і швидкість поділу клітин.

Склад і обмін ліпідів в яйцеклітинах і зародках в'юна вивчені недостатньо. Відомо, що значна кількість ліпідів, накопичена під час формування ооцита в жовтку, в подальшому використовується як будівельний матеріал для мембран клітин або як енергетичний субстрат багатьох процесів ембріогенезу, які проходять при різному ступені окиснення ліпідних компонентів [4]. Після запліднення відбувається перебудова структури мембран яйцеклітин, що супроводжується збільшенням текучості їх ліпідної фази, а потім різким зменшенням. Ці зміни пов'язують з впливом кальцію, бо під час активації в цитоплазмі яйцеклітин спостерігають багатократне збільшення вільного кальцію [1; 4], що дійсно може відобразитись на стані мембранних ліпідів і їх здатності до ПОЛ. Показано, що в процесі окремих клітинних циклів дроблення бластомерів спостерігається періодичний ріст і спад кількості вільного кальцію в бластодермі. Приведені дані, на думку авторів [4], дають можливість припустити, що за підтримання низького рівня перекисного окиснення ліпідів в ранньому ембріогенезі в значній мірі відповідають антиоксиданти, які, мабуть, є одним з важливих факторів підтримання високої швидкості клітинних дроблень. Поряд з тим пригнічення перекисного окиснення ліпідів на ранніх етапах розвитку не постійне, а змінюється, що, можливо, пов'язано з перерозподілом між жовтком і бластодермою антиоксидантів різних класів і формуванням мембранних структур в новоутворених бластомерах.

**Виділення невирішених раніше частин загальної проблеми.** Порушення регуляції процесів перекисного окиснення відбувається при розвитку патологічних станів в організмі, і, можливо, є одним з факторів, що визначають розвиток відповідних захворювань. Важливим є питання про роль продуктів окиснення в токсичному ефекті різних хімічних сполук, які попадають в організм ззовні [4]. Необхідною умовою для дії їх за цим механізмом є здатність стимулювати утворення пероксидів чи руйнувати природні антиоксиданти. Вважають, що вільні радикали, які утворюються з токсичних сполук, є тими реагентами, які діють на функціональні групи білків мембран і ферментів, порушуючи їх функцію, або вони відіграють роль ініціаторів процесів перекисно-

го окиснення кислот в мембранах і лише як наслідок цього процесу – виникнення токсичних ефектів дії отрути [1; 8].

**Мета роботи.** Мета роботи полягала у з'ясуванні впливу антибіотиків фторхінолонового ряду на інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів зародкових клітин в'юна *Misgurnus fossilis* L. Для досягнення цієї мети у роботі вирішували наступні завдання:

– дослідити інтенсивність процесів ПОЛ у зародках в'юна у контролі та за впливу бороцину у концентраціях (0,0001%; 0,001%; 0,005%) на різних стадіях розвитку впродовж періоду дроблення бластомерів.

**Виклад основного матеріалу.** Об'єктом досліджень були зародки в'юна на першу, третю та п'яту години розвитку, що відповідає стадіям 2-х, 36-ти та 64-х бластомерів. Яйцеклітини одержували та запліднювали за методом, запропонованим А.А. Нейфахом [2]. Овуляцію стимулювали внутрішньом'язовим введенням самкам хоріогонічного гонадотропіну (500 од.). Ікру одержували через 36 год після стимулювання. Сім'яники одержували після декапітації та розтину черевної порожнини самців. Ікру запліднювали в чашках Петрі суспензією спермій. Через 5-10 хв після запліднення зиготи відмивали та інкубували при температурі 20-22° С у фізіологічному розчині Гольтфретера. Інтенсивність процесів ПОЛ визначали за накопиченням ТБК-активних продуктів (комплексів альдегідів з 2-тіобарбітуровою кислотою) [7]. Досліджували зміну інтенсивності процесів ПОЛ зародків в'юна в період дроблення на стадіях 2-х, 36-ти та 64-х бластомерів. досліджень представлено у вигляді діаграми (рис. 1-3).

Процеси перекисного окиснення в риб є активні вже в ранньому онтогенезі. Показано, що ПОЛ інгібує швидкість поділу клітин зародків [4]. Тому, у яйцеклітинах в'юна спостерігається високий вміст ліпідних антиоксидантів і, як наслідок знижується рівень неферментативного ПОЛ. Його інтенсивність в незапліднених яйцеклітинах є низькою. Через 2 год після запліднення вона підвищується, що пояснюється активацією поділу бластомерів. На стадіях поділу та орга-

ногенезу відмічено збільшення (в 2-5 разів) кількості ліпопероксидів та малонового деальдегіду. На розвиток ПОЛ впливають різноманітні фактори. Проте на інтенсивність вільнорадикальних реакцій вплив антибіотиків майже не досліджувався з використанням зародкових об'єктів. Тому для з'ясування шляхів та механізмів впливу антибіотиків фторхінолонового ряду на еукаріотичні клітини, доцільно провести дослідження впливу фторхінолону бороцину на інтенсивність процесів ліпопероксидації у зародках в'юна на різних стадіях раннього розвитку.

Інтенсивність вільнорадикальних реакцій у зародків в'юна, інкубованих у середовищі Гольтфретера на стадії 2 бластомерів становить  $94,3 \pm 0,7$  ммоль/мг білка,  $p \geq 0,99$ . На стадії 32 бластомери, що відповідає третій годині розвитку інтенсивність процесу ПОЛ досягає максимуму і становить  $95,3 \pm 0,6$  ммоль/мг білка,  $p \geq 0,99$ , але через 2 години розвитку інтенсивність вільнорадикальних процесів достовірно знижується ( $89,5 \pm 0,4$  ммоль/мг білка,  $p \geq 0,99$ ).

Дослідження вмісту кінцевих продуктів ПОЛ за впливу фторхінолону бороцину є високоінформативним і дає уяву про перебіг процесів ПОЛ у динаміці. Тому наступним етапом було дослідити вплив бороцину на процеси перекисного окиснення ліпідів у концентраціях 0,0001%, 0,001% та 0,005%. Загальна інтенсивність процесів ліпопероксидації на початкових стадіях розвитку становила  $144,4 \pm 0,7$  ммоль/г білка,  $p \geq 0,99$ .

На подальших стадіях відмічено незначне зростання інтенсивності ПОЛ з подальшим зниженням (3 год розвитку –  $95,9 \pm 0,6$  ммоль/мг білка та 5 год розвитку –  $89,5 \pm 0,4$  ммоль/мг білка).

Нами показано, що на стадії другого поділу за впливу бороцину у низьких концентраціях (0,0001% та 0,001%) спостерігається вірогідне збільшення інтенсивності процесів ПОЛ відносно контролю ( $p \geq 0,99$ ). За впливу бороцину у концентраціях 0,001% та 0,005% на стадії 32 бластомери накопичення ТБК-позитивних продуктів вірогідно збільшується відносно контролю ( $p \geq 0,99$ ).

Через 2 год розвитку (стадія 252 бластомерів) за впливу фторхінолонів у досліджуваних кон-

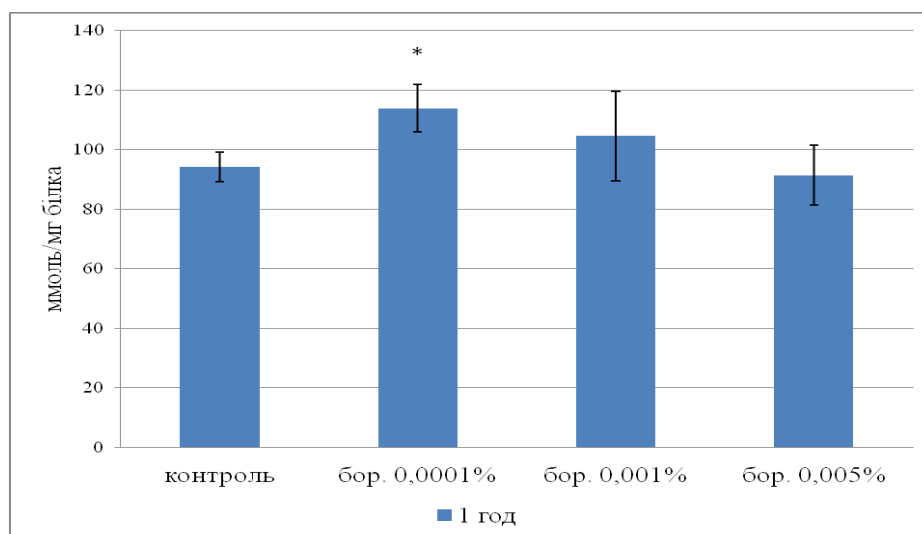


Рис. 1. Інтенсивність процесів ліпопероксидації у зародках в'юна, інкубованих у середовищі Гольтфретера за впливу антибіотика фторхінолонового ряду бороцину у різних концентраціях на першу годину розвитку

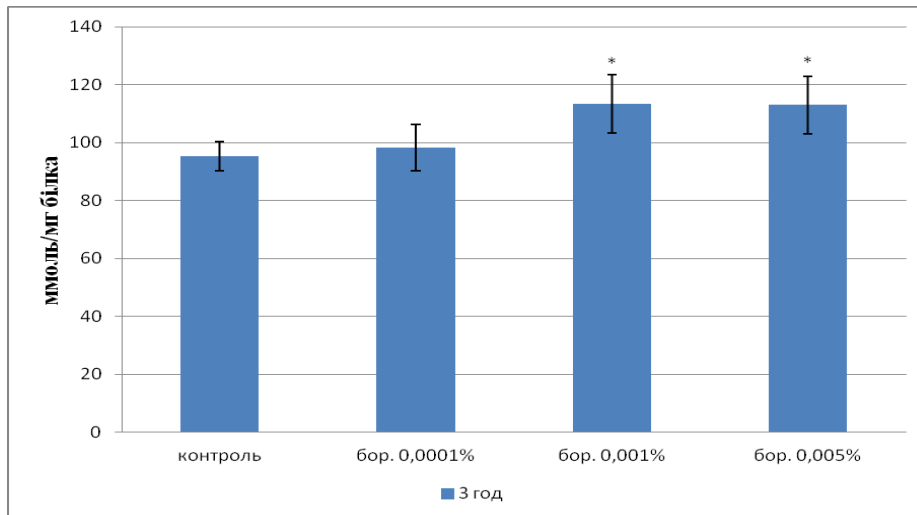


Рис. 2. Інтенсивність процесів ліпопероксидації у зародках в'юна, інкубованих у середовищі Гольцфретера за впливу антибіотика фторхінолонового ряду бороцину у різних концентраціях на третю годину розвитку

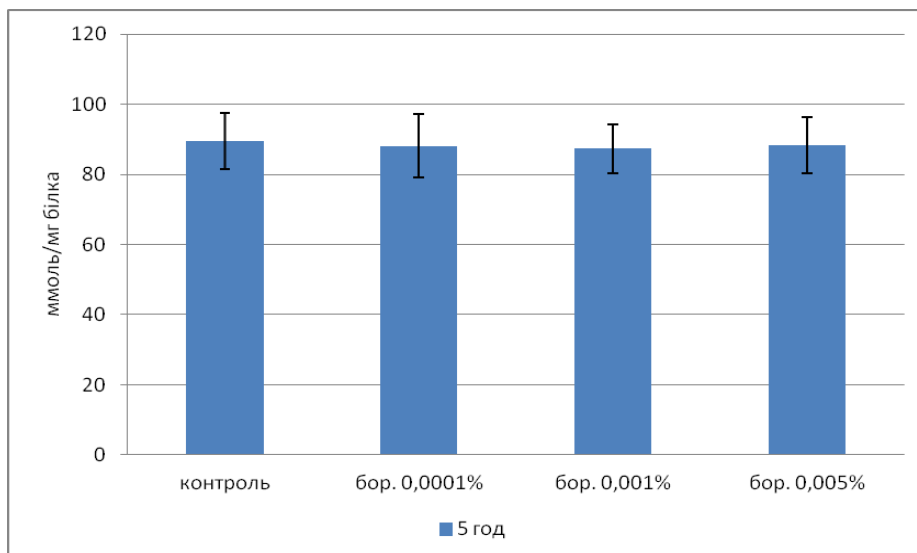


Рис. 3. Інтенсивність процесів ліпопероксидації у зародках в'юна, інкубованих у середовищі Гольцфретера за впливу антибіотика фторхінолонового ряду бороцину у різних концентраціях на п'яту годину розвитку

центраціях інтенсивність накопичення продуктів ПОЛ суттєво не відрізняється від контролю.

**Висновки та перспективи дослідження.** Отже, отримані нами результати щодо перебігу вільнорадикальних реакцій свідчать про зростання інтенсивності процесів ПОЛ на початкових стадіях

розвитку. Отримані результати дають підставу вважати, що зародки в'юна *Misgurnus fossilis L.* на стадіях синхронних поділів бластомерів є зручною та адекватною тест-системою для дослідження впливу фармакологічних та хімічних чинників на живі організми.

### Список літератури:

1. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах // Сорос. образ. журн. ISSEP. – 2000. – Т. 6, № 12. – С. 13-19.
2. Нейфах А.А. Молекулярная биология процессов развития. – М.: Наука, 1977. – 311 с.
3. Падейская Е.Н., Яковлев В.П. Антимикробные препараты группы фторхинолонов в клинической практике. – М.: Лагота, 1998. – 351 с.
4. Процеси перекисного окиснення ліпідів у живих організмах: монографія / Н.П. Головчак, А.В. Тарновська, Г.І. Коцюмбас, Д.І. Санагурський. – Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2012. – 252 с.
5. Тарновська А.В. Біохімічний та цитологічний аспекти дослідження впливу антибіотику бороцину в ранньому ембріогенезі / Тарновська А.В., Целевич М.В., Мандзинець С.М., Мажак К.Д., Санагурський Д.І. // Сучасні проблеми епідеміології, мікробіології та гігієни. Матеріали конференції, Львів, 19-20 травня, 2006. – С. 109-112.
6. Тарновська А.В. Дослідження впливу фторхінолону бороцину на розвиток зародків в'юна протягом раннього ембріогенезу. Біохімічний та цитологічний аспекти / М.В. Целевич, А.В. Тарновська, Г.І. Коцюмбас, Д.І. Санагурський // Біологія тварин. – 2005. – 7, № 1/2. – С. 143-151.

7. Тимирбулатов Р.А., Селезнев Е.И. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидосодержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лаб. дело. – 1981. – № 4. – С. 209-211.
8. Яцків О. Інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів у зародках в'юна за впливу катіонів кальцію та магнію / Яцків О., Тарновська А. // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2014. – Вип. 68. – С. 101-108.

**Тарновская А.В., Генегга А.Б., Семочко Е.Н., Яремчук М.М.**

Львовский национальный университет имени Ивана Франко

## **ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ЗАРОДЫШЕЙ ВЬЮНА НА ПРОТЯЖЕНИИ РАННЕГО ЭМБРИОГЕНЕЗА ПРИ ВЛИЯНИИ АНТИБИОТИКА ФТОРХИНОЛОНОВОГО РЯДА БОРОЦИНА**

### **Аннотация**

В статье исследованы интенсивность процессов перекисного окисления липидов зародышей вьюна в контроле и при воздействии бороцина в концентрациях (0,00001%; 0,001%; 0,005%) на разных стадиях развития в течение периода дробления blastomeres. Показано, что при действии бороцина в исследуемых концентрациях происходит рост интенсивности процессов перекисного окисления липидов на начальных стадиях развития. Полученные результаты дают основание считать, что зародыши вьюна *Misgurnus fossilis* L. на стадиях синхронных делений blastomeres являются удобной и адекватной тест-системой для исследования влияния фармакологических и химических факторов на живые организмы.

**Ключевые слова:** зародыши вьюна, перекисное окисление липидов, blastomeres, фторхинолоны.

**Tarnovska A.V., Heneha A.B., Semochko O.M., Yaremchuk M.M.**

Ivan Franko National University of Lviv

## **LIPID PEROXIDATION IN LOACH EMBRYOS DURING EARLY EMBRYOGENESIS UNDER INFLUENCE OF FLUOROQUINOLONE ANTIBIOTIC BOROCINE**

### **Summary**

In the article the intensity of the processes of lipid peroxidation in the germs of the liver in the control and under the influence of borocin in the concentrations (0,00001%, 0,001%, 0,005%) at different stages of development during the period of crushing of blastomeres is investigated. It is shown that the effects of borocin in the concentrations studied increase the intensity of lipid peroxidation processes in the initial stages of development. The obtained results suggest that the germs of *Misgurnus fossilis* L. in the stages of synchronous blastomeric divisions are a convenient and adequate test system for the study of the influence of pharmacological and chemical factors on living organisms.

**Keywords:** loach embryos, lipid peroxidation, blastomeres, fluoroquinolones.